

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
18. August 2005 (18.08.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2005/075994 A3

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **G01N 33/543**

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2005/050343

(22) Internationales Anmeldedatum:
27. Januar 2005 (27.01.2005)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2004 005 710.9 5. Februar 2004 (05.02.2004) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): **SIEMENS AKTIENGESELLSCHAFT** [DE/DE];
Wittelsbacherplatz 2, 80333 München (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **SIMON, Elfriede**

[DE/DE]; Winthir Str. 18, 80639 München (DE). **FLEISCHER, Maximilian** [DE/DE]; Schlossangerweg 12, 85635 Höhenkirchen (DE). **MEIXNER, Hans** [DE/DE]; Max-Planck-Str. 5, 85540 Haar (DE). **HAINDL, Corinna** [DE/DE]; Peter-Auzinger-Str. 17, 81547 München (DE).

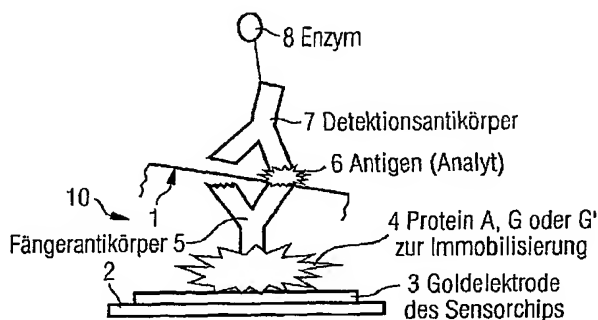
(74) Gemeinsamer Vertreter: **SIEMENS AKTIENGESELLSCHAFT**; Postfach 22 16 34, 80506 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: BIOSENSOR AND METHOD FOR OPERATING THE LATTER

(54) Bezeichnung: BIOSENSOR UND VERFAHREN ZU DESSEN BETRIEB



8... ENZYME
7... DETECTION ANTIBODY
6... ANTIGEN (ANALYTE)
5... CAPTURE ANTIBODY
4... PROTEIN A, G OR G' FOR IMMOBILISATION
3... GOLD ELECTRODE OF THE SENSOR CHIP

(57) Abstract: The invention relates to a biosensor for detecting an antigen (6) using an antigen/antibody coupling, said sensor consisting of the following elements: a silicon substrate (2), at least one interdigital electrode pair structure (12) that is located on the silicon substrate (2), whereby the electrode pair (13) is interspaced at a maximum distance of 1.0 µm; a counter-electrode (11) that is located on the silicon substrate (2); a reference electrode (9); a first layer consisting of protein (4), which at least covers the interdigital electrode structure (12); a selective second protein layer that is applied to the first layer and contains a capture antibody (5), which is selected specifically with respect to the antigen (6) to be detected and to which the antigen can be coupled. According to the invention, a sensor signal can be read on the interdigital electrode structure (12), if the antigen (6) is coupled to the capture antibody (5) by means of a sample to be analysed that comes into contact with the biosensor and a redox reactive molecule is enzymatically released

on the sensor surface (1) by means of an enzyme-marked detection antibody (7) that is likewise coupled to the antigen (6).

(57) Zusammenfassung: Biosensor zur Detektion eines Antigenes, (6) mittels einer Antigen/Antikörper-Kopplung, der aus folgenden Elementen besteht: einem Siliziumsubstrat (2), - mindestens einer auf dem Siliziumsubstrat (2) aufgebracht interdigitalen Elektrodenpaarstruktur (12) mit einer Beabstandung der Elektrodenpaare (13) von maximal 1,0 µm, - einer auf dem Siliziumsubstrat (2) aufgebracht Gegenelektrode (11), einer Referenzelektrode (9), - einer zumindest die interdigitale Elektrodenstruktur (12) überdeckende ersten Schicht aus Protein (4), einer über der ersten Schicht aufgebracht selektiven zweiten Proteinschicht die einen entsprechend dem zu detektierenden Antigen (6), ausgewählten Fängerantikörper (5) enthält mit dem das Antigen koppeln kann, - wobei ein Sensorsignal an der interdigitalen Elektrodenstruktur (12) auslesbar ist, wenn durch eine mit dem Biosensor in Kontakt stehenden zu analysierenden Probe das Antigen (6) an den Fängerantikörper (5) gekoppelt ist und mittels eines enzymmarkierten ebenfalls mit dem Antigen (6) gekoppelten Detektionsantikörpers (7) eine enzymatische Freisetzung eines redoxreaktiven Moleküls an der Sensoroberfläche (1) erfolgt.

WO 2005/075994 A3



TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

- (84) **Bestimmungsstaaten** (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

(88) **Veröffentlichungsdatum des internationalen**

Recherchenberichts:

8. Dezember 2005

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP2005/050343

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 G01N33/543

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|--|-----------------------|
| Y | US 6 673 533 B1 (WOHLSTADTER JACOB N ET AL) 6 January 2004 (2004-01-06) column 8 - column 42; claims; figures 19,49; example 6.47 | 1-14 |
| T | US 2005/176067 A1 (FLEISCHER MAXIMILIAN ET AL) 11 August 2005 (2005-08-11) the whole document | 1-14 |
| A | GB 2 276 724 A (* CAMBRIDGE LIFE SCIENCES PLC) 5 October 1994 (1994-10-05) abstract | 1-14 |
| A | WO 00/62048 A (FRAUNHOFER-GESELLSCHAFT ZUR FOERDERUNG DER ANGEWANDTEN FORSCHUNG E.V;) 19 October 2000 (2000-10-19) abstract | 1-14 |
| | ----- -/-- | |

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

30 September 2005

Date of mailing of the international search report

24/10/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

GONCALVES MAUGER, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP2005/050343

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|---|-----------------------|
| A | US 5 945 294 A (FRANK ET AL) 31 August 1999 (1999-08-31) abstract; claims ----- | 1-14 |
| A | US 4 778 751 A (EL SHAMI ET AL) 18 October 1988 (1988-10-18) abstract; claims ----- | 1-14 |
| Y | NIWA O ET AL: "ELECTROCHEMICAL BEHAVIOR OF REVERSIBLE REDOX SPECIES AT INTERDIGITATED ARRAY ELECTRODES WITH DIFFERENT GEOMETRIES: CONSIDERATION OF REDOX CYCLING AND COLLECTION EFFICIENCY" ANALYTICAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. COLUMBUS, US, vol. 62, no. 5, 1990, pages 447-452, XP000943524 ISSN: 0003-2700 page 447 - page 448; table 1 ----- | 1-14 |
| A | KREUZER M P ET AL: "Development of an immunosensor for the determination of allergy antibody (IgE) in blood samples" ANALYTICA CHIMICA ACTA, vol. 442, no. 1, 31 August 2001 (2001-08-31), pages 45-53, XP002347367 ISSN: 0003-2670 abstract ----- | 1-14 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2005/050343

| Patent document cited in search report | | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|----|---------------------|---|--|
| US 6673533 | B1 | 06-01-2004 | US 2001021534 A1 | 13-09-2001 |
| US 2005176067 | A1 | 11-08-2005 | NONE | |
| GB 2276724 | A | 05-10-1994 | NONE | |
| WO 0062048 | A | 19-10-2000 | DE 19916921 A1 WO 0062047 A1 | 19-10-2000 19-10-2000 |
| US 5945294 | A | 31-08-1999 | AT 246361 T AU 7411498 A CA 2270868 A1 DE 69723860 D1 DE 69723860 T2 DK 943097 T3 EP 0943097 A1 ES 2205266 T3 JP 2001507792 T WO 9823964 A1 US 6309832 B1 | 15-08-2003 22-06-1998 04-06-1998 04-09-2003 03-06-2004 24-11-2003 22-09-1999 01-05-2004 12-06-2001 04-06-1998 30-10-2001 |
| US 4778751 | A | 18-10-1988 | AU 613308 B2 AU 6762087 A CA 1291028 C DE 3776401 D1 DK 241787 A EP 0245926 A2 IE 59362 B1 IL 82466 A JP 2001990 C JP 7021500 B JP 62269070 A JP 7239331 A JP 8001437 B NO 870670 A NZ 218981 A | 01-08-1991 19-11-1987 22-10-1991 12-03-1992 13-11-1987 19-11-1987 09-02-1994 12-12-1991 20-12-1995 08-03-1995 21-11-1987 12-09-1995 10-01-1996 13-11-1987 29-08-1989 |

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 G01N33/543

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 G01N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|---|--------------------|
| Y | US 6 673 533 B1 (WOHLSTADTER JACOB N ET AL) 6. Januar 2004 (2004-01-06) Spalte 8 - Spalte 42; Ansprüche; Abbildungen 19,49; Beispiel 6.47 | 1-14 |
| T | US 2005/176067 A1 (FLEISCHER MAXIMILIAN ET AL) 11. August 2005 (2005-08-11) das ganze Dokument | 1-14 |
| A | GB 2 276 724 A (* CAMBRIDGE LIFE SCIENCES PLC) 5. Oktober 1994 (1994-10-05) Zusammenfassung | 1-14 |
| A | WO 00/62048 A (FRAUNHOFER-GESELLSCHAFT ZUR FOERDERUNG DER ANGEWANDTEN FORSCHUNG E.V.) 19. Oktober 2000 (2000-10-19) Zusammenfassung | 1-14 |
| | ----- -/- | |

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

30. September 2005

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

24/10/2005

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

GONCALVES MAUGER, M

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie° | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|---|--------------------|
| A | US 5 945 294 A (FRANK ET AL) 31. August 1999 (1999-08-31) Zusammenfassung; Ansprüche ----- | 1-14 |
| A | US 4 778 751 A (EL SHAMI ET AL) 18. Oktober 1988 (1988-10-18) Zusammenfassung; Ansprüche ----- | 1-14 |
| Y | NIWA O ET AL: "ELECTROCHEMICAL BEHAVIOR OF REVERSIBLE REDOX SPECIES AT INTERDIGITATED ARRAY ELECTRODES WITH DIFFERENT GEOMETRIES: CONSIDERATION OF REDOX CYCLING AND COLLECTION EFFICIENCY" ANALYTICAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, COLUMBUS, US, Bd. 62, Nr. 5, 1990, Seiten 447-452, XP000943524 ISSN: 0003-2700 Seite 447 - Seite 448; Tabelle 1 ----- | 1-14 |
| A | KREUZER M P ET AL: "Development of an immunosensor for the determination of allergy antibody (IgE) in blood samples" ANALYTICA CHIMICA ACTA, Bd. 442, Nr. 1, 31. August 2001 (2001-08-31), Seiten 45-53, XP002347367 ISSN: 0003-2670 Zusammenfassung ----- | 1-14 |

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2005/050343

| Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument | Datum der Veröffentlichung | Mitglied(er) der Patentfamilie | Datum der Veröffentlichung |
|--|-------------------------------|-----------------------------------|--|
| US 6673533 | B1 | 06-01-2004 | US 2001021534 A1 13-09-2001 |
| US 2005176067 | A1 | 11-08-2005 | KEINE |
| GB 2276724 | A | 05-10-1994 | KEINE |
| WO 0062048 | A | 19-10-2000 | DE 19916921 A1 19-10-2000 WO 0062047 A1 19-10-2000 |
| US 5945294 | A | 31-08-1999 | AT 246361 T 15-08-2003 AU 7411498 A 22-06-1998 CA 2270868 A1 04-06-1998 DE 69723860 D1 04-09-2003 DE 69723860 T2 03-06-2004 DK 943097 T3 24-11-2003 EP 0943097 A1 22-09-1999 ES 2205266 T3 01-05-2004 JP 2001507792 T 12-06-2001 WO 9823964 A1 04-06-1998 US 6309832 B1 30-10-2001 |
| US 4778751 | A | 18-10-1988 | AU 613308 B2 01-08-1991 AU 6762087 A 19-11-1987 CA 1291028 C 22-10-1991 DE 3776401 D1 12-03-1992 DK 241787 A 13-11-1987 EP 0245926 A2 19-11-1987 IE 59362 B1 09-02-1994 IL 82466 A 12-12-1991 JP 2001990 C 20-12-1995 JP 7021500 B 08-03-1995 JP 62269070 A 21-11-1987 JP 7239331 A 12-09-1995 JP 8001437 B 10-01-1996 NO 870670 A 13-11-1987 NZ 218981 A 29-08-1989 |